

PROPOSITION SUJET de MASTER 2017-2018

TITRE : Recherche des riboprotéines impliquées dans la régulation de la virulence de *Dickeya dadantii*

Nom, Prénom du Maitre de Stage : Florence Hommais

Qualité : MC

Téléphone : 0472431621

E-mail : florence.hommais@univ-lyon1.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel : Sylvie Reverchon

Qualité : MC

Téléphone : 0472432695

E-mail : sylvie.reverchon-pescheux@insa-lyon.fr

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe : Equipe CRP UMR5240 Microbiologie Adaptation Pathogénie

Adresse :

Campus de la Doua, Bat Lwoff 10 rue Dubois 69622 Villeurbanne

Nom du candidat éventuellement proposé : Pauline Héritier

S'il n'est pas retenu, acceptez-vous un autre candidat ?

Oui - Non

Description du sujet au verso ⇒

Sujet (objectif, démarche et technique, collaboration(s),...) :

Parmi les dix espèces bactériennes décrites comme des pathogènes majeurs des plantes se trouvent les espèces *Dickeya spp*¹. Ces bactéries provoquent le symptôme de la pourriture molle. De nombreuses plantes sont touchées par cette infection. Parmi elles, plusieurs sont d'intérêt agronomique comme la pomme de terre ou l'endive. Les infections des plantes par ces espèces étaient jusqu'à récemment cantonnées aux pays tropicaux et ne touchaient pas les pays tempérés. Actuellement, on observe l'émergence de souches de *Dickeya* en Europe avec la présence de souches hyper-virulentes. Ainsi cette bactérie est maintenant classée comme pathogène émergent en Europe². Le symptôme de la pourriture provoqué par *Dickeya* est du à la dégradation de la pectine des végétaux. Ainsi les enzymes telles que les pectate lyases ou encore les cellulases produites par les *Dickeya* sont considérées comme les facteurs de virulence majeurs. D'autres facteurs vont aider à l'infection comme les flagelles, les exopolysaccharides ou encore les systèmes de captation du Fer². La seule production de ces facteurs de virulence par les bactéries ne garantit pas le succès d'une infection. En effet, il faut notamment qu'elles soient capables de se multiplier dans leur environnement afin d'atteindre un nombre critique pour l'infection. Ainsi, la coordination spatiale et temporelle de l'expression des différents facteurs de la virulence est donc primordiale pour le succès de l'infection et leur régulation joue donc un rôle important². La recherche de l'équipe d'accueil CRP se concentre sur l'étude de la régulation des facteurs de virulence des *Dickeya*. De nombreux facteurs de transcription ont ainsi été identifiés, de même que l'impact de la structure du chromosome. Récemment il a été proposé que des mécanismes de régulation post-transcriptionnelle seraient également impliqués dans la régulation des facteurs de virulence.

Cette régulation post-transcriptionnelle fait intervenir des ARN non codants, qui par interaction de bases avec leurs ARNm cibles, peut moduler la stabilité de ces ARNm ou perturber leurs traductions. Pour être efficace des protéines chaperon vont aider à l'interaction entre l'ARNm et les ARNc. Ces protéines chaperons sont caractérisées par leur capacité à interagir avec les ARN et sont appelées Riboprotéines. La plus connue et la plus étudiée est la protéine Hfq. Elle est impliquée dans la plus part des interactions ARN-ARN³. Récemment il a été mis en évidence d'autres riboprotéines jouant un rôle dans ces interactions comme la protéine ProQ. Chez les espèces de *Dickeya* des protéines homologues à Hfq et à ProQ ont été identifiées. Les premiers résultats obtenus par le laboratoire suggèrent une implication de ces protéines dans la régulation de la virulence de cette bactérie. Des souches mutantes inactivées soit pour la protéine Hfq, soit pour la protéine ProQ sont atténuées dans leur capacité d'infection de feuille d'endives. Ceci suggère une implication de la régulation post-transcriptionnelle dans la mise en place de l'infection. Cependant, le rôle de chacune de ces riboprotéines reste à déterminer. Enfin, lorsque l'on quantifie le nombre d'interactions ARNc – ARNm nécessitant la présence d'une riboprotéine et les quantités de protéines Hfq et ProQ présentes par cellule, on peut noter un déficit dans la quantité totale de riboprotéines. Dès lors la question de la présence d'autres riboprotéines se pose et des candidats ont été identifiés.

L'objectif de ce stage de master 2 est l'identification des riboprotéines de *Dickeya* et leur étude dans la régulation des facteurs de virulence : 1) par l'identification des rôles spécifiques ou redondants des riboprotéines Hfq et ProQ, 2) par l'identification d'autres riboprotéines impliquées dans la régulation des facteurs de virulence.

Méthodologies utilisées :

1) Biologie Moléculaire :

- Construction de souches pour la complémentation hétérologue des mutants *hfq* et *proQ* (clonage)
- Construction d'une banque d'ADN génomique et complémentation du mutant *hfq*
- Construction de mutants inactivés pour les gènes candidats

2) Microbiologie : tests phénotypiques

- Mesure de la virulence par tests d'infection sur feuille d'endives ou tubercules de pomme de terre
- Mesure de la production des facteurs de virulence (Production des enzymes de dégradation...etc)

3) Mise au point technologique : RIP-seq (Séquençage des ARN co-Immuno-précipités avec une riboprotéine)

1 Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald P, Dow M, Verdier V, Beer SV, Machado MA, Toth I, Salmond G, Foster GD. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Mol Plant Pathol 13(6):614-29.

2 Reverchon S, Nasser W. *Dickeya* ecology, environment sensing and regulation of virulence programme. Environ Microbiol Rep. 2013 Oct;5(5):622-36.

3 Storz G, Vogel J, Wassarman KM. Regulation by Small RNAs in bacteria : expanding frontiers. Mol Cell. 2011 16;43(6):880-91